

# Flow measurement for liquid analysis - by passing measurement liquid, air and cleaning and/or buffer solution past bio-sensor in defined repeated sequence

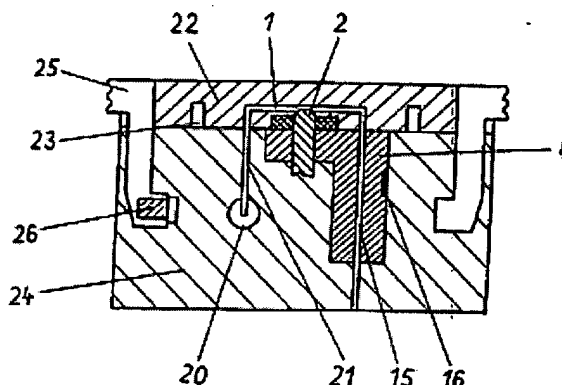
**Patent number:** DE4227338  
**Publication date:** 1994-02-24  
**Inventor:** ASMANN FRANK DIPL ING (DE); WALTER BERTHOLD DIPL ING (DE); BORLICH STEFFEN DIPL ING (DE)  
**Applicant:** EKF IND ELEKTRONIK GMBH (DE)  
**Classification:**  
- **international:** G01N35/00; G01N27/28; G01N1/20; G01N27/327; G01D3/04; G05D23/00; G01N21/05; G01N33/49  
- **european:** G01N27/28, G01N33/18, G01N33/487  
**Application number:** DE19924227338 19920818  
**Priority number(s):** DE19924227338 19920818

## Abstract of DE4227338

The measurement liquid, air and a cleaning and/or buffer soln. are fed through a flow channel in a fixed sequence under valve (V1-V4) control and in a continuously repeatable cycle. At least one biosensor is arranged on the flow channel. The presence of the measurement liquid is detected in a specimen container, the cleaning or buffer soln. is sucked out of the channel whilst air then measurement liquid then air again are fed into a preparation section. The prepared liquid is sucked into the flow channel and past the biosensor(s) at constant flow rate to enable determination of the liquid component(s).

The flow measurement arrangement is then made ready again by applying cleaning and/or buffer soln. via a third valve (V4) until a defined flow value has been reached as measured by the biosensor(s). The individual steps of the method are performed automatically.

**USE/ADVANTAGE** - For use in medical applications, e.g. for water and waste water treatment. Require only very small quantities of liquid, i.e. no more than a drop.



Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

02 P 18 151



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 **Offenlegungsschrift**  
10 **DE 42 27 338 A 1**

21 Aktenzeichen: P 42 27 338.2  
22 Anmeldetag: 18. 8. 92  
43 Offenlegungstag: 24. 2. 94

51 Int. Cl.<sup>5</sup>:  
**G 01 N 35/00**  
G 01 N 27/28  
G 01 N 1/20  
G 01 N 27/327  
G 01 D 3/04  
G 05 D 23/00  
G 01 N 21/05  
// G 01 N 33/49

DE 42 27 338 A 1

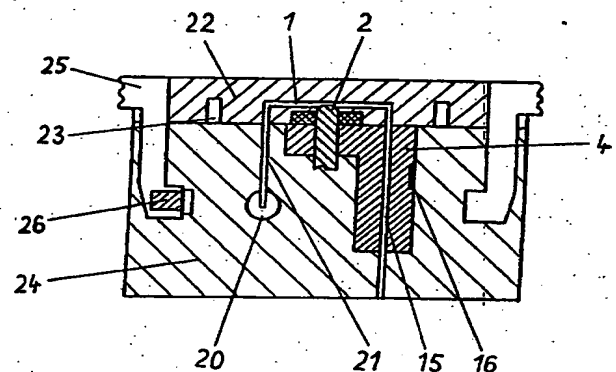
71 Anmelder:  
EKF Industrie Elektronik GmbH, 39114 Magdeburg, DE

74 Vertreter:  
Bolschakow, J., Hochschuling. Faching.f.  
Schutzrechtsw., Pat.-Anw., 39128 Magdeburg

72 Erfinder:  
Aßmann, Frank, Dipl.-Ing., 39112 Magdeburg, DE;  
Walter, Berthold, Dipl.-Ing., 39114 Magdeburg, DE;  
Borlich, Steffen, Dipl.-Ing., 39116 Magdeburg, DE

54 Verfahren und Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten

57 Bekannte Verfahren und Durchflußmeßanordnungen benötigen insbesondere zur Analyse von Flüssigkeiten im medizinischen Bereich größere Mengen der zu analysierenden Flüssigkeit oder erreichen keine reproduzierbaren Meßergebnisse. Durch die Erfindung sollen auch nach mehreren Meßzyklen reproduzierbare Meßergebnisse hoher Genauigkeit erreicht werden sowie Vorortmessungen möglich sein. Das Vorhandensein der Meßflüssigkeit in der Durchflußmeßanordnung wird durch optische Abtastung festgestellt, wodurch der automatische Ablauf des Analyseverfahrens ausgelöst wird. Die Meßflüssigkeit (3) passiert den bzw. die am Durchflußkanal (1) angeordneten Biosensoren (2) in jedem Zyklus unter konstanten Fließ- und Temperaturbedingungen. Die Durchflußmeßanordnung ist innerhalb eines tragbaren ortsunabhängigen Laborgerätes angeordnet und weist eine Probenaufnahmevorrichtung (6) und eine Sensoreinheit (5) mit einem entnehmbaren Oberteil (22) auf. Die Erfindung dient der Analyse von Flüssigkeiten im medizinisch-technischen Bereich und bei der Wasser- und Abwasserbehandlung, wofür bereits kleinste Flüssigkeitsmengen ausreichend sind.



DE 42 27 338 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten im medizinisch-technischen Bereich, bei der Wasser- und Abwasserbehandlung in Industrie und Forschung und bei Verfahren unter Verwendung von Flüssigkeiten vorgeschriebener Zusammensetzung oder Reinheit in der chemischen und Nahrungsmittelindustrie, wobei bereits kleinste Flüssigkeitsmengen für die Analyse ausreichend sind.

Aus der DD-PS 2 28 357 ist ein Verfahren und ein Durchflußanalysator zur Analyse einer verdünnten Meßprobenflüssigkeit bekannt. Dabei ist von Nachteil, daß nur jeweils zwei Meßzyklen nacheinander ablaufen können, wonach eine aufwendige mehrstufige Eichung mit mehreren Bezugslösungen erfolgen muß und eine Einlaufzeit von mindestens einer Stunde vor Beginn der nächsten zwei Meßzyklen notwendig ist. Weiterhin kann immer nur ein Bestandteil der verdünnten Meßprobenflüssigkeit in einem Meßzyklus gemessen werden, was für die Bestimmung mehrerer verschiedener Bestandteile der Meßprobenflüssigkeit von wesentlichem Nachteil ist. Nachteilig ist auch die Verwendung verdünnter Meßprobenflüssigkeit, was die Gefahr von Meßfehlern durch Verunreinigungen beim Verdünnen vergrößert. Die Zuführung der Meßprobenflüssigkeit in den Durchflußkanal mittels einer Spritze und Schlauchventilen, welche durch eine Exzentrzscheibe gesteuert werden, läßt eine Verwendung für geringste Flüssigkeitsmengen nicht zu, da die Betätigung der Schlauchventile durch die Exzentrzscheibe keine genaue Dosierung der Meßprobenflüssigkeit ermöglicht.

Aus den DD-PS 2 48 436 und 2 78 870 ist je eine Durchflußmeßzelle bekannt, welche eine zylindrische Elektrodenkammer mit einer darin angeordneten Membranelektrode aufweist. Durch Absenkung oder Anhebung eines Probenansaugrohres wird entweder Meßflüssigkeit oder Spülflüssigkeit in die Mikromeßkammer angesaugt, wobei in der Zwischenstellung Luft angesaugt wird.

Die Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit wird durch elektronische Temperaturkompensation oder Temperierung der Meßflüssigkeit berücksichtigt. Aufgrund der geometrischen Form der Mikromeßkammer und der Anordnung der Einlaß- und Auslaßöffnung in senkrechter Richtung zum Kopf der Membranelektrode entstehen in der Mikromeßkammer Verwirbelungen, Stauräume und diskontinuierliche Flüsse über der Membranelektrode, welche den Meßvorgang undefinierbar nachteilig beeinflussen sowie das Festsetzen von Meßflüssigkeitsrückständen ermöglichen, welche durch den Spülvorgang nicht beseitigt werden können. In der Folge führt das zu keinen reproduzierbaren Meßergebnissen, so daß die beschriebene Anordnung für halbautomatische oder automatische Analyseverfahren ungeeignet ist. Auch die vertikale Bewegung des Probenansaugrohres stellt eine weitere Fehlerquelle dar. Das Bestimmen mehrerer Bestandteile der Meßprobenflüssigkeit ist mit der beschriebenen konstruktiven Anordnung der Durchflußmeßzelle ebenfalls nicht möglich.

Aus der DE-OS 34 16 956 ist eine Meßvorrichtung mit einem mehrere ionensensitive Elektroden und einen Durchflußkanal aufweisenden Elektrodenblock bekannt. Nachteilig bei der Verwendung von ionensensitiven Elektroden ist die erforderliche Kalibrierung nach jeder Messung, so daß eine größere Menge an Kali-

brierflüssigkeit vorhanden sein muß, sowie die ebenfalls notwendigen verschiedenen Elektrolytflüssigkeiten für die Analyse der unterschiedlichen Bestandteile der Meßflüssigkeit, was den konstruktiven Aufwand der Meßvorrichtung erhöht. Die verschiedenen Bestandteile der Meßprobenflüssigkeit werden durch eine Parallelmessung an den Elektroden am Durchflußkanal bestimmt, wobei der Durchflußkanal vollständig mit Meßflüssigkeit ausgefüllt sein muß und somit mehrere hundert Mikroliter Meßflüssigkeit erforderlich sind. Weiterhin von Nachteil ist der Aufwand an zusätzlichen Sensoren zur Positionsbestimmung der Meßprobenflüssigkeit bzw. Kalibrierlösungen innerhalb der Meßvorrichtung. Aufgrund der benötigten größeren Mengen an Meßflüssigkeit ist eine Verwendung der beschriebenen Meßvorrichtung für medizinische Vorortmessungen, insbesondere zur Analyse von Vollblut, nicht geeignet.

Aus der US-PS 4,759,828 ist eine Durchflußmeßzelle mit einer darin angeordneten, membranbedeckten Enzymelektrode zur Messung von Glukose in Vollblut bekannt. Zur Zu- und Abführung des Vollbluts, Luft und reinigender Pufferlösung besitzt die Durchflußmeßzelle einen Einlaß- und einen Auslaßkanal, welche dem Kopf der Enzymelektrode schräg gegenüber angeordnet sind. Aufgrund der geometrischen Anordnung der Enzymelektrode zu Einlaß- und Auslaßkanal entstehen in der Durchflußmeßzelle Verwirbelungen, Stauräume und diskontinuierliche Flüsse über der Enzymelektrode, welche den Meßvorgang undefinierbar nachteilig beeinflussen sowie das Festsetzen von Blutrückständen in der Durchflußmeßzelle ermöglichen, welche durch den Spülvorgang nicht beseitigt werden können. In der Folge führt das zu wenig reproduzierbaren Meßergebnissen, so daß diese Durchflußmeßzelle für halbautomatische oder automatische Analyseverfahren ungeeignet ist. Weiterhin ist mit dieser Durchflußmeßzelle nur ein Bestandteil der Blutprobe bestimmbar. Nachteilig ist die für die Messung benötigte Menge von bis zu 100 µl Vollblut. Das in der US-PS 4,759,828 vorgeschlagene Meßverfahren mit Messung des Grundstromwertes der Enzymelektrode zu einer vorgegebenen Festzeit und Vergleich mit den Meßwerten einer Standardlösung mit bekannter Glukosekonzentration ist sehr problematisch, da bereits geringfügige Änderungen der Umgebungsbedingungen, der Fließeigenschaften des Blutes bzw. des Durchflusses innerhalb der gesamten Meßanordnung zu fehlerhaften Meßergebnissen führen. Auch zur Berücksichtigung des Temperatureinflusses auf das Meßergebnis werden in der US-PS 4,759,828 keine Maßnahmen genannt. Aus der PCT-Schrift WO 89/09396 ist eine weitere Durchflußmeßanordnung mit an einem Durchflußkanal angeordneten ionensensitiven Elektroden bekannt. Dabei ist das Ende der Elektrodenköpfe in einer Ebene mit der inneren Wand des Durchflußkanals angeordnet, was einen ungehinderten Fluß durch den Durchflußkanal gewährleisten soll. Der Nachteil einer solchen Anordnung ist, daß sie für eine Messung mit membranbedeckten Enzymelektroden nicht verwendbar ist, da die erforderliche Umspülung des Kopfes der Enzymelektrode mit der Meßflüssigkeit nicht möglich ist. Nachteilig ist weiterhin, wie schon bei der DE-OS 34 16 956 genannt, die erforderliche Kalibrierung nach jeder Messung, so daß eine größere Menge an Kalibrierflüssigkeit vorhanden sein muß. Auch wird eine größere Menge an Meßflüssigkeit benötigt, so daß die Meßanordnung nach der WO 89/09396 zur Analyse von Vollblut, nicht geeignet ist. Zur Berücksichtigung des Temperatureinflusses auf das Meßergebnis

werden in der WO 89/09396 keine Maßnahmen genannt.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten zu schaffen, wobei bereits geringste Flüssigkeitsmengen (maximal ein Tropfen) ausreichend sind, um die Bestandteile der zu analysierenden Flüssigkeit mit hoher Genauigkeit, insbesondere bei medizinischer Anwendung, zu bestimmen. Bekannterweise stehen zur Analyse von Flüssigkeiten vor allem im medizinisch-technischen Bereich nur geringe Mengen der zu analysierenden Flüssigkeit zur Verfügung. Insbesondere bei der Analyse von Vollblut besteht das Problem, daß häufig nur ein Tropfen für die Analyse ausreichen muß, um die Belastungen für den Menschen so gering wie möglich zu halten. Durch die Erfindung sollen reproduzierbare Meßergebnisse auch nach mehreren Meßzyklen und bei Bestimmung mehrerer Bestandteile der zu analysierenden Flüssigkeit in einer Meßprobe gewährleistet werden. Es soll eine Analyse vor Ort möglich sein, um unmittelbare und unverfälschte Meßergebnisse zu erhalten. Zur Vermeidung von zusätzlichen Fehlern sollen zur Analyse unverdünnte bzw. keine speziell aufbereiteten Flüssigkeiten verwendet werden.

Die Aufgabe der Erfindung wird gemäß den Verfahrensmerkmalen im Anspruch 1 und den kennzeichnenden Merkmalen der Durchflußmeßanordnung im Anspruch 10 gelöst. Vorteilhafte Ausbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen aufgeführt.

Die Erfindung soll anhand eines Ausführungsbeispiels nachfolgend näher erläutert werden. Dabei zeigen

Fig. 1 ein Flußschema zum Ablauf des erfindungsgemäßen Verfahrens,

Fig. 2 ein Zeitdiagramm für die Stellung der Ventile  $V_1$ ,  $V_3$  und  $V_4$  während des Verfahrensablaufs,

Fig. 3 eine perspektivische, schematisierte Ansicht eines Laborgerätes mit Durchflußmeßanordnung,

Fig. 4 einen Querschnitt durch die Sensoreinheit der Durchflußmeßanordnung,

Fig. 5 einen Querschnitt durch einen Teil der Probenaufnahmevorrichtung,

Fig. 6a bis 6c einen vergrößerten Ausschnitt des Durchflußkanals als Längs- bzw. Querschnitt mit dem Kopf des Biosensors.

Das Ausführungsbeispiel wird der Einfachheit halber unter Verwendung eines am Durchflußkanal angeordneten Biosensors beschrieben und nur an unbedingt notwendigen Stellen auf mehrere Biosensoren Bezug genommen. Das Flußschema gemäß Fig. 1 zeigt die erfindungswesentlichen Verfahrensabläufe sowie vorteilhafte Ausbildungen zur Analyse einer Flüssigkeit mittels einer ebenfalls erfindungsgemäßen Durchflußmeßanordnung. In einem ersten Verfahrensschritt wird das Vorhandensein der Meßflüssigkeit in einem Meßprobenbehälter in der Durchflußmeßanordnung, welche sich dabei im Zustand der Meßbereitschaft befindet, mittels optischer Abtastung festgestellt. Solange keine Meßflüssigkeit vorhanden ist, bleibt die Durchflußmeßanordnung im Zustand der Meßbereitschaft. Wurde dagegen festgestellt, daß die Meßflüssigkeit vorhanden ist, werden in einem zweiten Verfahrensschritt die Reinigungs- und/oder Pufferlösung aus dem Durchflußkanal abgesaugt und über elektronisch gesteuerte Ventile  $V_1$  und  $V_3$  gleichzeitig Luft sowie nachfolgend die Meßflüssigkeit wiederum gefolgt von Luft in eine Vorbereitungsstrecke und den Durchflußkanal angesaugt. Zum Erhalt reproduzierbarer Meßergebnisse erfolgt innerhalb der Vorbereitungsstrecke eine Aufbereitung der

Meßflüssigkeit und die aufbereitete Meßflüssigkeit passiert den Durchflußkanal unter in jedem Zyklus konstanten Umgebungs- und Fließbedingungen. Zu diesem Zweck passiert die Meßflüssigkeit den Biosensor mit in jedem Zyklus konstanter Fließgeschwindigkeit, wodurch der zu ermittelnde Bestandteil der Meßflüssigkeit bereits mit hoher Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bestimmt werden kann.

Vorteilhafterweise wird zur Aufbereitung der Meßflüssigkeit in der Vorbereitungsstrecke eine in jedem Zyklus konstante Menge Meßflüssigkeit über das Ventil  $V_3$  angesaugt, wobei die Meßflüssigkeit beidseitig von einer Luftblase begrenzt wird. Gemäß Fig. 2 wird zum Zeitpunkt  $t_2$  das Ventil  $V_3$  zum Ansaugen der Meßflüssigkeit geöffnet und zum Zeitpunkt  $t_3$  wieder geschlossen. Dabei wird bei konstanter Fließgeschwindigkeit eine in jedem Zyklus konstante Menge an Meßflüssigkeit in die Vorbereitungsstrecke und den Durchflußkanal angesaugt, da die Zeitdifferenz  $t_3 - t_2$  von Zyklus zu Zyklus stets gleich ist. Die Größe der Luftblasen wird bei konstanter Fließgeschwindigkeit nur durch die Länge der Öffnungszeiten des Ventils  $V_1$  bestimmt. Dabei sind die Öffnungszeiten des Ventils  $V_1$  von Zyklus zu Zyklus gleichbleibend konstant. Die Öffnungszeiten des Ventils  $V_1$  zum Ansaugen jeweils einer Luftblase vor und nach dem Ansaugen der Meßflüssigkeit während eines Zyklus können dagegen voneinander verschieden sein. Gemäß Zeitdiagramm in Fig. 2 wird das Ventil  $V_1$  zum Ansaugen von Luft zu den Zeitpunkten  $t_1$  bzw.  $t_3$  geöffnet und zu den Zeitpunkten  $t_2$  bzw.  $t_4$  geschlossen. Aufgrund der zeitlich gesteuerten Aufbereitung der Meßflüssigkeit in der Vorbereitungsstrecke mit konstanten Mengen an Meßflüssigkeit und Luft und konstanter Fließgeschwindigkeit der Meßflüssigkeit beim Ansaugen und beim Durchfließen der Vorbereitungsstrecke und des Durchflußkanals im zweiten Verfahrensschritt werden keine zusätzlichen Sensoren zur Überwachung des Standortes der Meßflüssigkeit innerhalb der Durchflußmeßanordnung benötigt. Zur Erhöhung der Meßsicherheit kann es notwendig sein, eventuell mögliche Ablagerungen am Kopf des Biosensors vor dem Meßvorgang zu beseitigen. Diese Ablagerungen können bei geöffnetem Ventil  $V_1$  nach dem Ansaugen von Luft durch einen kurzzeitigen Fluß der im Durchflußkanal befindlichen Reinigungs- und/oder Pufferlösung entgegen der Ansaugrichtung entfernt werden. Weiterhin wird die Meßflüssigkeit zur Kompensation der Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit in der Vorbereitungsstrecke unmittelbar vor dem Eintritt der Meßflüssigkeit in den Durchflußkanal temperiert. Durch die Temperierung der Meßflüssigkeit werden in jedem Zyklus im Durchflußkanal und während der Messung am Biosensor konstante Temperaturbedingungen geschaffen. Durch gleichzeitige Temperierung des Biosensors werden die konstanten Temperaturbedingungen während der Messung am Biosensor weiter stabilisiert. Bei der Analyse von Vollblut können z. B. die Meßflüssigkeit und der Biosensor auf einer Temperatur von  $37^\circ\text{C}$  temperiert werden.

Durch entsprechende Begrenzung der konstanten Öffnungszeit des Ventils  $V_3$  kann die angesaugte Menge an Meßflüssigkeit vorteilhaft beschränkt werden, so daß diese stets einen gleich großen Teilabschnitt des Durchflußkanals ausfüllt. Das trifft vor allem auf die Fälle zur Messung mehrerer Bestandteile der Meßflüssigkeit zu, wobei eine entsprechende Anzahl an Biosensoren an einem längeren Durchflußkanal angeordnet sind. Damit

ist es möglich, daß auch bei einem längeren Durchflußkanal nur eine äußerst geringe Menge der Meßflüssigkeit benötigt wird. Für eine Analyse von z. B. Vollblut als Meßflüssigkeit ist eine Menge von 10 µl völlig ausreichend. Dadurch können mehrere Bestandteile der Meßflüssigkeit einer Meßprobe nacheinander durch am Durchflußkanal in einer Reihe angeordnete Biosensoren bestimmt werden, ohne daß dazu der gesamte Durchflußkanal mit Meßflüssigkeit ausgefüllt sein muß. Mehrere zu bestimmende Bestandteile von Vollblut können z. B. Glucose, Lactat, Cholesterin oder Harnstoff sein.

Zur Bestimmung des entsprechenden Bestandteils der Meßflüssigkeit im zweiten Verfahrensschritt wird vorteilhafterweise ein dynamisches Meßverfahren mit mathematischer Auswertung angewendet, was eine hohe Meßsicherheit garantiert. Dabei wird der Strom I des Biosensors differentiell gemessen und daraus durch Bildung der ersten Ableitung der bekannten Strom-Zeit-Funktion des Biosensors der steilste Anstieg des Stroms I ermittelt. Durch Bildung der zweiten Ableitung der Strom-Zeit-Funktion wird der dazugehörige Wendepunkt ermittelt. Der Wert des Stroms I am Wendepunkt stellt dessen Maximalwert dar und ist gleichzeitig der Meßwert. Der ermittelte Meßwert wird, wie allgemein üblich, in eine Maßeinheit für den im zweiten Verfahrensschritt jeweils bestimmten Bestandteil der Meßflüssigkeit umgerechnet, wie z. B. in mmol/l oder mg/dl. Die Meßzeit, welche durch den zweiten Verfahrensschritt bestimmt wird, beträgt z. B. für eine Analyse von Vollblut mit einem Biosensor weniger als 10 Sekunden.

Nach der Bestimmung des entsprechenden Bestandteils der Meßflüssigkeit erfolgen in einem dritten Verfahrensschritt eine sofortige Reinigung der Vorbereitungsstrecke und des Durchflußkanals mittels der Reinigungs- und/oder Pufferlösung und die Herstellung der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung. Ein gewisse Menge an Reinigungs- und/oder Pufferlösung wurde bereits vorher mit Öffnung des Ventils V<sub>4</sub> zum Zeitpunkt t<sub>4</sub> in die Vorbereitungsstrecke unmittelbar nach der die Meßflüssigkeit abschließenden Luftblase angesaugt. Durch Erhöhung der Fließgeschwindigkeit der Reinigungs- und/oder Pufferlösung während des Reinigungsprozesses und abwechselnden Vorwärts- und Rückwärtsfluß in der Durchflußmeßanordnung wird der Reinigungseffekt noch verbessert. Als Rückwärtsfluß werden dabei der Fluß entgegen der Ansaugrichtung und als Vorwärtsfluß der Fluß in Ansaugrichtung verstanden. Beim Rückwärtsfluß der Reinigungs- und/oder Pufferlösung und bei geöffnetem Ventil V<sub>3</sub> kann auch ein vor dem Ventil V<sub>3</sub> liegender Ansaugkanal gereinigt werden. Gemäß Fig. 2 wird zum zweimaligen Reinigen des Ansaugkanals das Ventil V<sub>3</sub> zu den Zeitpunkten t<sub>5</sub> und t<sub>6</sub> geöffnet, die Flußrichtung in einen Rückwärtsfluß umgekehrt und gleichzeitig das Ventil V<sub>4</sub> für die Reinigungs- und/oder Pufferlösung geschlossen. Nach dem Schließen des Ventils V<sub>3</sub> wird das Ventil V<sub>4</sub> jeweils wieder geöffnet und die Flußrichtung wieder in einen Vorwärtsfluß umgekehrt, so daß weiter Reinigungs- und/oder Pufferlösung angesaugt werden kann.

Die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung ist hergestellt, sobald am Biosensor ein vorgegebener Stromwert I<sub>2</sub> gemessen wurde. Der vorgegebene Stromwert I<sub>2</sub> ist sensorspezifisch abhängig von der Art des verwendeten Biosensors, den zu analysierenden Bestandteilen der Meßflüssigkeit sowie seiner Betriebsdauer und wird vorzugsweise nach jedem Zyklus neu festgelegt. Dazu wird im dritten Verfahrensschritt der

Durchflußkanal solange gereinigt, bis der am Biosensor gemessene Strom I einen konstanten Wert angenommen hat. Nach einer Fehlerüberprüfung, ob der zuletzt gemessene Strom I unter Berücksichtigung des vorgegebenen Stromwertes I<sub>2</sub> aus dem vorhergehenden Zyklus innerhalb bestimmter Toleranzgrenzen liegt, wird der zuletzt gemessene Strom I zum neuen vorgegebenen Stromwert I<sub>2</sub> für den nächsten Zyklus bestimmt. Werden bei der Fehlerüberprüfung die Toleranzgrenzen überschritten, wird der Reinigungsvorgang für eine bestimmte Zeitspanne fortgesetzt und versucht mit dem Strom I noch in den Toleranzbereich zu kommen oder es wird ein irreversibler Fehler am Biosensor diagnostiziert. Zum Zeitpunkt t<sub>7</sub> gemäß Fig. 2 hat der Biosensor einen vorgegebenen Stromwert I<sub>2</sub> erreicht und die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung ist wieder hergestellt. Zum Zeitpunkt t<sub>1</sub> gemäß Fig. 2 beginnt ein neuer Verfahrenszyklus.

Die Durchflußmeßanordnung kann für eine bestimmte Zeitdauer in der Meßbereitschaft verbleiben, wobei diese Zeitdauer durch die Lebensdauer des für den Biosensor verwendeten biologischen Materials begrenzt ist. Während der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung erfolgen selbsttätig alle notwendigen Abläufe, wie Austausch der Reinigungs- und/oder Pufferlösung, Kalibrierung des Biosensors in vorher festgelegten Zeitabständen t<sub>k</sub> und fortlaufende Temperierung, um die Meßbereitschaft aufrechtzuerhalten.

Da das Verbleiben der Durchflußmeßanordnung in der Meßbereitschaft durch die selbsttätig ablaufenden Vorgänge ständig Energie verbraucht, gibt es die vorteilhafte Möglichkeit, daß die Durchflußmeßanordnung aus dem Zustand der Meßbereitschaft in einen Ruhezustand gelangt. Die Dauer des Ruhezustandes wird ebenfalls durch die Lebensdauer des für den Biosensor verwendeten biologischen Materials begrenzt. Innerhalb des Ruhezustandes wird in vorher festgelegten Zeitabständen die Reinigungs- und/oder Pufferlösung im Durchflußkanal erneuert, um die Funktionsfähigkeit des Biosensors zu erhalten und jederzeit wieder in die Meßbereitschaft zurückkehren zu können. In einer ersten Variante des Ruhezustandes laufen während des Ruhezustandes keine weiteren Verfahrensschritte ab. In einer zweiten Variante des Ruhezustandes wird neben der Erneuerung der Reinigungs- und/oder Pufferlösung im Durchflußkanal zu vorher festgelegten ersten Zeitabständen zu ebenfalls vorher festgelegten zweiten Zeitabständen eine begrenzte Menge einer Standardlösung in den Durchflußkanal angesaugt, wodurch das biologische Material des Biosensors aktiviert wird, so daß nach Ende des Ruhezustandes die Durchflußmeßanordnung schneller in den Zustand der Meßbereitschaft zurückgeführt werden kann. Während des Ruhezustandes bleibt das Ventil V<sub>4</sub> ständig geöffnet, außer beim Ansaugen der Standardlösung in der zweiten Variante des Ruhezustandes. Nach Ende eines Ruhezustandes wird vor Herstellung der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung eine Kalibrierung des Biosensors mittels der Standardlösung, wie weiter unten beschrieben vorgenommen.

Bekanntlich ändert sich mit der Dauer des Gebrauchs von Biosensoren deren Empfindlichkeit, daß heißt aufgrund des natürlichen Alterungsprozesses des für Biosensoren verwendeten biologischen Materials verflacht die Stromkurve des Biosensors. Es muß daher in bestimmten Zeitabständen eine Kalibrierung des Biosensors mittels einer Standardlösung erfolgen. Bei Verwendung mehrerer am Durchflußkanal angeordneter Bio-

sensoren kann es notwendig sein, daß für jeden Biosensor eine andere Standardlösung zur Kalibrierung benutzt werden muß, so daß die Biosensoren einzeln und nacheinander zu kalibrieren sind. Vorteilhafterweise wird beim erfindungsgemäßen Verfahren automatisch nach Ablauf einer vorher festgelegten Zeit  $t_k$  die Kalibrierung durch Ansaugen der Standardlösung in den Durchflußkanal vorgenommen. Dazu erfolgt im Zustand der Meßbereitschaft ein ständiger Zeitvergleich der Zeit  $t_k$  mit der seit der letzten Kalibrierung vergangenen Zeit  $t$ , wobei die benötigten Zeiten für die Verfahrensschritte gemäß ersten bis dritten Verfahrensschritt eingeschlossen sind. Jeder Kalibriervorgang beginnt mit dem Ansaugen einer Luftblase über das Ventil  $V_1$  und anschließend der Standardlösung über ein Ventil  $V_2$  in den Durchflußkanal. Während die Standardlösung den Biosensor passiert, wird der Strom  $I$  des Biosensors ständig gemessen und im Sättigungszustand, das heißt der Strom  $I$  bleibt dann konstant, der gemessene Stromwert als Kalibrierwert  $I_{k2}$  gespeichert. Nachdem der Biosensor seinen Sättigungszustand erreicht hat, werden die Standardlösung abgesaugt und der dritte Verfahrensschritt mit Reinigungsvorgang und Strommessung, wie oben beschrieben, durchgeführt. Vor dem Übergang in die Meßbereitschaft wird zur Einhaltung der Fehlergrenze nach jedem Kalibriervorgang der Kalibrierwert  $I_{k2}$  mit dem aus dem vorhergehenden Kalibriervorgang stammenden Kalibrierwert  $I_{k1}$  verglichen. Weicht der Kalibrierwert  $I_{k2}$  mehr als einen vorgegebenen Wert  $Z$ , z. B. 1%, vom Kalibrierwert  $I_{k1}$  ab, wird der Kalibriervorgang wiederholt. Zur Erhöhung der Meßsicherheit können bei jeder Kalibrierung mindestens zwei Kalibriervorgänge durchgeführt werden. Weichen der Kalibrierwert  $I_{k2}$  bei zwei aufeinanderfolgenden Kalibriervorgängen und dem Kalibrierwert  $I_{k1}$  nicht mehr als den vorgegebenen Wert  $Z$  voneinander ab, ist dann die Kalibrierung erfolgreich abgeschlossen und die Durchflußmeßanordnung nimmt wieder den Zustand der Meßbereitschaft ein. Nach jedem Vergleich der Kalibrierwerte  $I_{k2}$  und  $I_{k1}$  wird der Kalibrierwert  $I_{k1}$  durch  $I_{k2}$  ersetzt. Führt auch eine Mehrzahl aufeinanderfolgender Kalibriervorgänge nicht zu einer erfolgreichen Kalibrierung, liegt ein irreversibler Fehler am Biosensor vor und der Biosensor oder dessen Membran müssen ausgewechselt werden. Jede Kalibrierung wird, außer nach Ende eines Ruhezustandes, stets aus dem Zustand der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung gestartet, selbsttätig ausgeführt und beendet und die Durchflußmeßanordnung anschließend automatisch in den Zustand der Meßbereitschaft zurückgeführt. Die im Flußschema gemäß Fig. 1 dargestellte Verzweigung im Punkt P nach dem Reinigungsvorgang erfolgt automatisch über die Mikrorechnersteuerung. Je nach gespeicherter Zustandsabfrage, ob vor dem Reinigungsvorgang entweder eine Kalibrierung des Biosensors mittels Standardlösung erfolgte oder eine Meßflüssigkeit analysiert wurde, wird der Verfahrensablauf im Punkt P automatisch verzweigt.

Die einzelnen Verfahrensschritte, der Ruhezustand und die Kalibrierung laufen automatisch ab, wobei zur Analyse lediglich der Meßprobenbehälter mit der Meßflüssigkeit in eine Meßstellung in die Durchflußmeßanordnung gebracht und nach dem Ende des Zyklus wieder entfernt werden muß. Die einzelnen Verfahrensschritte können zur einfacheren und sicheren Analyse der Meßflüssigkeit für den Bediener unterstützt werden, indem Meßwerte, Fehler oder zu beachtende Bedingungen während des Verfahrensablaufs angezeigt werden.

Erfindungsgemäß ist gemäß Fig. 3 die Durchflußmeßanordnung in einem tragbaren und ortsunabhängigen Laborgerät untergebracht. Mit der Anordnung der Durchflußmeßanordnung in einem tragbaren Laborgerät sind unmittelbare Vorortmessungen möglich, z. B. für den Einsatz in fahrbaren Gesundheits-, medizinischen oder Umweltlabors zur Untersuchung von Körperflüssigkeiten des Menschen, von Wasserproben, von Abwässern usw. Dafür kann das Laborgerät sowohl im Batterie- als auch im Netzbetrieb betrieben werden.

Fig. 3 zeigt eine schematische Perspektivdarstellung eines Laborgerätes mit Durchflußmeßanordnung. Gemäß Fig. 3 weist die Durchflußmeßanordnung als Bestandteil des Laborgerätes eine Probenaufnahmevorrichtung 6 auf, die mit einer Sensoreinheit 5 verbunden ist. Zum An- und Absaugen der verschiedenen Flüssigkeiten und Luft in die bzw. aus der Durchflußmeßanordnung ist eine Schrittmotorpumpe 10 vorhanden. Im Laborgerät integriert ist ein entnehmbarer Abfallbehälter 14 zur Aufnahme der verbrauchten Flüssigkeiten aus der Durchflußmeßanordnung. Mit der Durchflußmeßanordnung sind weiterhin eine Tastatur 17 und eine Anzeige 13 verbunden, welche im Laborgerät angeordnet sind. Die Tastatur 17 besitzt Tasten für das Umschalten der Durchflußmeßanordnung in den Ruhezustand, für das Schalten in eine Zwangskalibrierung und für die Darstellung des Meßwertes in zwei verschiedenen Maßeinheiten. Die Anzeige 13 dient der Information für den Bediener über den Zustand der Durchflußmeßanordnung, über Bedienvorgänge und über den Meßwert sowie der Unterstützung des Bedieners bei der Durchführung der Analyse.

Gemäß Fig. 4 ist innerhalb der Sensoreinheit 5 der Biosensor 2 am Durchflußkanal 1 angeordnet. Die Sensoreinheit 5 weist weiterhin eine Heizeinrichtung 4 auf, welche an einem Teilstück 15 der Vorbereitungsstrecke und am Biosensor 2 bzw. den Biosensoren angeordnet ist. An der Heizeinrichtung 4 befindet sich ein Temperatursensor 16. Die Schrittmotorpumpe 10 ist gemäß Fig. 5 am Pumpenanschluß 20 eines Ablaufkanals 21 angeschlossen. Vorbereitungsstrecke, Durchflußkanal 1 und Ablaufkanal 21 bilden einen durchgehenden Kanal, den die verschiedenen Flüssigkeiten während eines Zyklus durchlaufen. Die Sensoreinheit 5 besitzt ein entnehmbares Kopfteil 22, welches mittels Führungsstiften 23 auf einem Unterteil 24 befestigt ist. Seitlich am Kopfteil 22 sind Griffe 25 angeordnet, von denen mindestens einer an einem am Unterteil 24 befestigten Kopfsensor 26 angreift.

Gemäß Fig. 5 dient die Probenaufnahmevorrichtung 6 der Aufnahme eines auswechselbaren Meßprobenbehälters; vorteilhafterweise einer Meßprobenkanüle 8. Das Vorhandensein der Meßflüssigkeit 3 in der Meßprobenkanüle 8 nach Aufnahme derselben in der Probenaufnahmevorrichtung 6 wird mittels eines optischen Sensors 7 festgestellt. Zur Halterung der Meßprobenkanüle 8 in der Meßstellung dient ein Führungsstück 12.

In Fig. 6a bis 6c ist der Durchflußkanal 1 mit dem Kopf des Biosensors 2 in vergrößerter Darstellung und in drei Ansichten dargestellt. Fig. 6a bis 6c zeigen den Biosensor 2, welcher senkrecht durch ein in der Wand des Durchflußkanals 1 durchbrechendes Langloch 9 in den Durchflußkanal 1 hineinragt. Die Funktionsweise der erfindungsgemäßen Durchflußmeßanordnung soll anhand von Fig. 3, 4, 5 und 6a bis 6c erläutert werden. Über einen im Laborgerät angeordneten Mikrorechner, welcher alle Funktionen der Durchflußmeßanordnung überwacht und steuert, werden auch die Schrittmotor-



pumpe 10 und die Ventile  $V_1$  zum Ansaugen von Luft,  $V_2$  zum Ansaugen einer Standardlösung,  $V_3$  zum Ansaugen der Meßflüssigkeit 3 sowie  $V_4$  zum Ansaugen der Reinigungs- und/oder Pufferlösung angesteuert.

Befindet sich die Durchflußmeßanordnung im Zustand der Meßbereitschaft und wurde eine Meßprobenkanüle 8 mit der Meßflüssigkeit 3 in die Meßstellung in die Probenaufnahmeverrichtung 6 gemäß Fig. 5 gebracht, gibt der optische Sensor 7 ein Signal an den Mikrorechner ab, worauf die Schrittmotorpumpe 10 zu arbeiten beginnt und gleichzeitig das Ventil  $V_1$  zum Ansaugen von Luft geöffnet sowie das im Zustand der Meßbereitschaft offene Ventil  $V_4$  geschlossen werden. Das Ende der Meßprobenkanüle 8 befindet sich dabei in der als kugelförmige Vertiefung ausgebildeten Öffnung des Ansaugkanals 11, so daß die Meßflüssigkeit 3 die Öffnung des Ansaugkanals 11 sofort verschließt und abdichtet. Durch Ankippen der Meßprobenkanüle 8 gegen ein Führungsstück 12 gelangt die Meßprobenkanüle 8 in die Meßstellung und wird darin gehalten. In der Meßprobenkanüle 8 befindet sich maximal ein Tropfen Meßflüssigkeit 3, vorzugsweise eine Menge von 10 bis 20  $\mu\text{l}$ . Der Zustand der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung wurde dem Bediener vorher über die Anzeige 13 mitgeteilt. Nach dem Ansaugen von Luft und Schließen des Ventils  $V_1$  wird Ventil  $V_3$  zum Ansaugen der Meßflüssigkeit 3 aus der Meßprobenkanüle 8 geöffnet. Ventil 3 ist am Übergang vom Ansaugkanal 11 zur Vorbereitungsstrecke angeordnet und öffnet oder verschließt den Ansaugkanal 11. Da der Ansaugkanal 11 über das Ventil  $V_3$  mit der Vorbereitungsstrecke und diese wiederum mit dem Durchflußkanal 1 in Verbindung steht und mit Beginn des Arbeitens der Schrittmotorpumpe 10 stets eines der Ventile  $V_1$ ,  $V_3$  oder  $V_4$  geöffnet ist, wird die in der Durchflußmeßanordnung befindliche Reinigungs- und/oder Pufferlösung abgesaugt und über den Ablaufkanal 21 in den Abfallbehälter 14 befördert.

Die Vorbereitungsstrecke innerhalb der Durchflußmeßanordnung dient der in jedem Zyklus konstanten Zusammenstellung von Luft, Meßflüssigkeit 3 und Reinigungs- und/oder Pufferlösung entsprechend der zeitlich gesteuerten Zuführung über die Ventile  $V_1$ ,  $V_3$  und  $V_4$  sowie der Temperierung der Meßflüssigkeit 3. Mittels der Heizeinrichtung 4 wird die Meßflüssigkeit 3 beim Passieren des Teilstücks 15 der Vorbereitungsstrecke auf eine in jedem Zyklus konstante Temperatur aufgeheizt. Die gleiche konstante Temperatur besitzen auch der bzw. die Biosensoren 2, da diese über ihre gut wärmeleitfähige Bezugselektrode mit der Heizeinrichtung 4 in thermischen Kontakt stehen. Damit weisen Meßflüssigkeit 3 und Biosensor 2 während der Messung in jedem Zyklus eine gleichbleibend konstante Temperatur auf, was den Temperaturfehler bei der Messung am bzw. an den Biosensoren 2 auf ein Minimum reduziert. Die Konstanthaltung der Temperatur der Heizeinrichtung 4 und damit der Meßflüssigkeit 3 und des Biosensors 2 wird über die vom Temperatursensor 16 an der Heizeinrichtung 4 gemessene und an den Mikrorechner signalisierte Temperatur mittels des Mikrorechners gesteuert.

Die Schrittmotorpumpe 10 arbeitet von Beginn eines jeden Zyklus an bis zum Erhalt des Meßwertes mit konstanter Schrittfrequenz, so daß die Fließgeschwindigkeit der Meßflüssigkeit 3 konstant ist und bei Messung im Durchflußkanal 1 stets gleichbleibende Fließbedingungen in jedem Zyklus bestehen. Zur Gewährleistung gleichbleibender Fließbedingungen im Durchflußkanal

1 besitzt dieser vorteilhafterweise einen zylindrischen Querschnitt und verläuft im Wesentlichen geradlinig sowie in den Abschnitten mit Biosensor 2 im rechten Winkel zur Längsachse des jeweiligen Biosensors 2. Dadurch werden Verwirbelungen der Meßflüssigkeit 3 beim Passieren des Biosensors 2 und Stauräume in der Umgebung des Biosensors 2 innerhalb des Durchflußkanals 1 nahezu ausgeschlossen, so daß auch über dem Kopf des Biosensors 2 mit der Biomembran, welche auf den zu bestimmenden Bestandteil der Meßflüssigkeit 3 reagiert, konstante Fließbedingungen herrschen. Der Meßwert wird mittels eines Wandlers in eine für den Mikrorechner verarbeitbare Form gebracht und an diesen weitergegeben.

Zur Darstellung des ermittelten und umgerechneten Meßwertes in zwei verschiedenen Maßeinheiten an der Anzeige 13 kann der Bediener durch Betätigung der entsprechenden Taste auf der Tastatur 17 zwischen den beiden Mengeneinheiten auswählen. Gemäß der in Fig. 6a gezeigten Ansicht eines vergrößerten Längsschnittes durch den Durchflußkanal 1 und durch den daran angeordneten Biosensor 2, der in Fig. 6c gezeigten Ansicht eines vergrößerten Längsschnittes durch den Durchflußkanal 1 quer zur Längsachse des Biosensors 2 und der in Fig. 6b gezeigten Ansicht eines vergrößerten Querschnittes durch den Durchflußkanal 1 entlang der Längsachse des Biosensors 2 ragt der Kopf des Biosensors 2 mit einer Höhe A in den Durchflußkanal 1 durch das Langloch 9 hinein. In Fig. 6c ist im Langloch 9 eine Draufsicht auf den Kopf des Biosensors 2 mit der Meßelektrode im Zentrum, einer diese umgebenden Bezugselektrode und einer dazwischenliegenden Isolierschicht zu sehen. Als Biosensor 2 ist z. B. der in der DE-Patentanmeldung P 41 15 795.8 beschriebene Biosensor geeignet.

Die geometrische Form des Langloches 9 ist vorteilhafterweise der geometrischen Form des Kopfes des Biosensors 2 derart angepaßt, daß der Kopf des Biosensors 2 tangential unter einem bestimmten Winkel  $\alpha$  an der Langlochöffnung anliegt. Vorzugsweise betragen die Höhe A ein Viertel bis die Hälfte des Durchmessers des Durchflußkanals 1 und der Winkel  $\alpha$  ca.  $100^\circ$  bei einem Größenverhältnis zwischen Durchmesser des Durchflußkanals 1 und Durchmesser des Biosensors 2 von ca. 1 : 3. Das bewirkt einerseits eine vollständige Abdichtung der Langlochöffnung im Durchflußkanal 1 durch den Kopf des Biosensors 2, so daß keine zusätzlichen Dichtungsmittel erforderlich sind, und andererseits ein glattes Anliegen der über den Kopf des Biosensors 2 gespannten Biomembran am Langloch 9, so daß die mechanisch empfindliche Biomembran beim Wechsel und Anbringen des Biosensors 2 am Durchflußkanal 1 nicht beschädigt werden kann. Die beschriebene Anordnung des Kopfes des Biosensors 2 am und innerhalb des Durchflußkanals 1 bewirkt weiterhin die genannten konstanten Fließbedingungen bei der Messung im Durchflußkanal 1 mit und sichert somit eine hohe Reproduzierbarkeit des Meßwertes. Für den Reinigungsvorgang nach der Messung wird die Schrittfrequenz der Schrittmotorpumpe 10 erhöht, so daß sich die Fließgeschwindigkeit der Reinigungs- und/oder Pufferlösung ebenfalls erhöht und somit der Reinigungseffekt verstärkt wird. Durch automatisches Umschalten der Drehrichtung der Schrittmotorpumpe 10 während des Reinigungsvorganges wird der Vorwärts- oder Rückwärtsfluß der Reinigungs- und/oder Pufferlösung in der Durchflußmeßanordnung gemäß oben beschriebenen drittem Verfahrensschritt realisiert.



Im Zustand der Meßbereitschaft bleibt der Durchflußkanal 1 bei geöffnetem Ventil V<sub>4</sub> stets vollständig mit Reinigungs- und/oder Pufferlösung ausgefüllt.

Während des Arbeitens der Schrittmotorpumpe 10 ist jeweils nur ein Ventil V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub> oder V<sub>4</sub> geöffnet, so daß in der Durchflußmeßanordnung kein Unter- oder Überdruck entstehen kann bzw. ein Vermischen von Flüssigkeiten untereinander oder mit Luft vermieden wird.

Die Durchflußmeßanordnung kann durch Betätigung der entsprechenden Taste auf der Tastatur 17 in den Ruhezustand geschaltet werden. Bei erstmaliger Inbetriebnahme oder bei Wiederinbetriebnahme nach Außerbetriebsetzung des Laborgerätes sowie nach einem Wechsel der Biomembran gelangt die Durchflußmeßanordnung auch automatisch in den Ruhezustand, um einen jeweils einmaligen Einlaufvorgang des Biosensors 2 zu ermöglichen.

Der Wechsel der Biomembran des Biosensors 2 erfolgt nach Entnahme des Kopfteils 22 aus der Sensoreinheit 5 gemäß Fig. 4, wobei der Kopfsensor 26 diesen Vorgang an den Mikrorechner signalisiert. Über die Anzeige 13 kann der Bediener über die im einzelnen durchzuführenden Schritte für den Wechsel der Biomembran informiert werden.

Desweiteren kann der Bediener durch Betätigung der entsprechenden Taste auf der Tastatur 17 eine Zwangskalibrierung veranlassen. Die Zwangskalibrierung bietet dem Bediener die Möglichkeit bei einer zu erwartenden Meßreihe, die nächste automatische Kalibrierung nach Ablauf der Zeitspanne  $t_k$  vorzuziehen, um die gesamte Zeitspanne  $t_k$  für die nächste Meßreihe ausnutzen zu können.

Die Anwendbarkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens und der Durchflußmeßanordnung ist nicht auf die Analyse von Vollblut oder Körperflüssigkeiten beschränkt, sondern ist für alle Arten von Flüssigkeiten geeignet. Je nach Art des Biosensors und des dafür verwendeten biologischen Materials lassen sich alle Bestandteile der jeweiligen Flüssigkeit bestimmen, die auf ein entsprechendes biologisches Material ansprechen bzw. damit in Reaktion treten.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Analyse von Flüssigkeiten mittels einer Durchflußmeßanordnung, wobei die zu analysierende Meßflüssigkeit, Luft und eine Reinigungs- und/oder Pufferlösung einen Durchflußkanal in einer festgelegten Reihenfolge ventilgesteuert und in einem ständig wiederholbaren Zyklus durchfließen und am Durchflußkanal mindestens ein Biosensor angeordnet ist, dadurch gekennzeichnet, daß in einem ersten Verfahrensschritt das Vorhandensein der Meßflüssigkeit in einem Meßprobenbehälter in der sich in Meßbereitschaft befindlichen Durchflußmeßanordnung festgestellt wird, daß in einem zweiten Verfahrensschritt die im Durchflußkanal befindliche Reinigungs- und/oder Pufferlösung abgesaugt und gleichzeitig über ein erstes Ventil (V<sub>1</sub>) Luft sowie nachfolgend über ein zweites Ventil (V<sub>3</sub>) die Meßflüssigkeit wiederum gefolgt von Luft in eine Vorbereitungsstrecke angesaugt, in der Vorbereitungsstrecke für die Messung aufbereitet und die aufbereitete Meßflüssigkeit in den Durchflußkanal angesaugt werden, wobei die Meßflüssigkeit den bzw. die Biosensoren mit in jedem Zyklus konstanter Fließgeschwindigkeit passiert und dabei der oder die Bestandteile der

Meßflüssigkeit bestimmt werden, daß in einem dritten Verfahrensschritt die Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung wieder hergestellt wird, indem die Vorbereitungsstrecke und der Durchflußkanal mittels der über ein drittes Ventil (V<sub>4</sub>) angesaugten Reinigungs- und/oder Pufferlösung gereinigt werden, der Strom (I) des bzw. der Biosensoren gemessen und der Reinigungsvorgang solange fortgesetzt werden, bis ein jeweils vorgegebener Stromwert (I<sub>2</sub>) gemessen wurde, und daß die einzelnen Verfahrensschritte automatisch ablaufen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßanordnung nach Herstellung der Meßbereitschaft einen Ruhezustand einnimmt, in welchem in vorher festgelegten Zeitabständen die Reinigungs- und/oder Pufferlösung im Durchflußkanal erneuert wird und keine weiteren Verfahrensschritte ablaufen.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßanordnung nach Herstellung der Meßbereitschaft einen Ruhezustand einnimmt, in welchem in vorher festgelegten ersten Zeitabständen die Reinigungs- und/oder Pufferlösung im Durchflußkanal erneuert und in vorher festgelegten zweiten Zeitabständen der Durchflußkanal von einer oder mehreren Standardlösungen durchflossen werden.

4. Verfahren nach Anspruch 1 und 2 oder 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß nach Ende des Ruhezustandes vor Herstellung der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung eine Kalibrierung des bzw. der Biosensoren mittels einer oder mehrerer Standardlösungen erfolgt.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in vorher festgelegten Zeitabständen  $t_k$  eine Kalibrierung des bzw. der Biosensoren mittels einer oder mehrerer Standardlösungen aus dem Zustand der Meßbereitschaft der Durchflußmeßanordnung erfolgt.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß im zweiten Verfahrensschritt die aufbereitete und durch Luft beidseitig begrenzte Meßflüssigkeit beim Durchfließen des Durchflußkanals stets einen gleich großen Teilabschnitt des Durchflußkanals ausfüllt und dabei der bzw. die Bestandteile der Meßflüssigkeit durch den Biosensor bzw. nacheinander durch die Biosensoren bestimmt werden.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Öffnungszeiten des ersten Ventils (V<sub>1</sub>) zum Ansaugen von Luft vor dem Ansaugen der Meßflüssigkeit und nach dem Ansaugen der Meßflüssigkeit von Zyklus zu Zyklus konstant sind.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Öffnungszeiten des ersten Ventils (V<sub>1</sub>) zum Ansaugen von Luft während eines Zyklus untereinander verschieden sind.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß im zweiten Verfahrensschritt zur Bestimmung des bzw. der Bestandteile der Meßflüssigkeit der Strom (I) des bzw. der Biosensoren differentiell gemessen und daraus unter Verwendung der bekannten Strom-Zeit-Funktion des jeweiligen Biosensors der steilste Anstieg des Stroms (I) sowie der Maximalwert am Wendepunkt der abgeleiteten Strom-Zeit-Funktion des je-

weiligen Biosensors ermittelt werden, wobei der ermittelte Maximalwert gleichzeitig der Meßwert ist.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit im zweiten Verfahrensschritt mittels Temperieren der Meßflüssigkeit kompensiert wird.

11. Durchflußmeßanordnung zur Analyse von Flüssigkeiten, wobei die zu analysierende Meßflüssigkeit, Luft und eine Reinigungs- und/oder Pufferlösung einen Durchflußkanal in einer festgelegten Reihenfolge ventilsteuert und in einem ständig wiederholbaren Zyklus durchfließen und am Durchflußkanal mindestens ein Biosensor angeordnet ist, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßanordnung in einem tragbaren und ortsunabhängigen Laborgerät untergebracht ist.

12. Durchflußmeßanordnung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß eine Heizeinrichtung (4) zur Kompensation der Abhängigkeit des Meßergebnisses von der Temperatur der Meßflüssigkeit (3) an einem Teilstück (15) der Vorbereitungsstrecke und am bzw. an den Biosensoren (2) angeordnet ist und die Meßflüssigkeit (3) sowie den bzw. die Biosensoren (2) während der Messung auf einem konstanten Temperaturwert hält.

13. Durchflußmeßanordnung nach einem der Ansprüche 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßanordnung eine Probenaufnahmevorrichtung (6) mit einem optischen Sensor (7) zur Aufnahme einer auswechselbaren Meßprobenkanüle (8) aufweist.

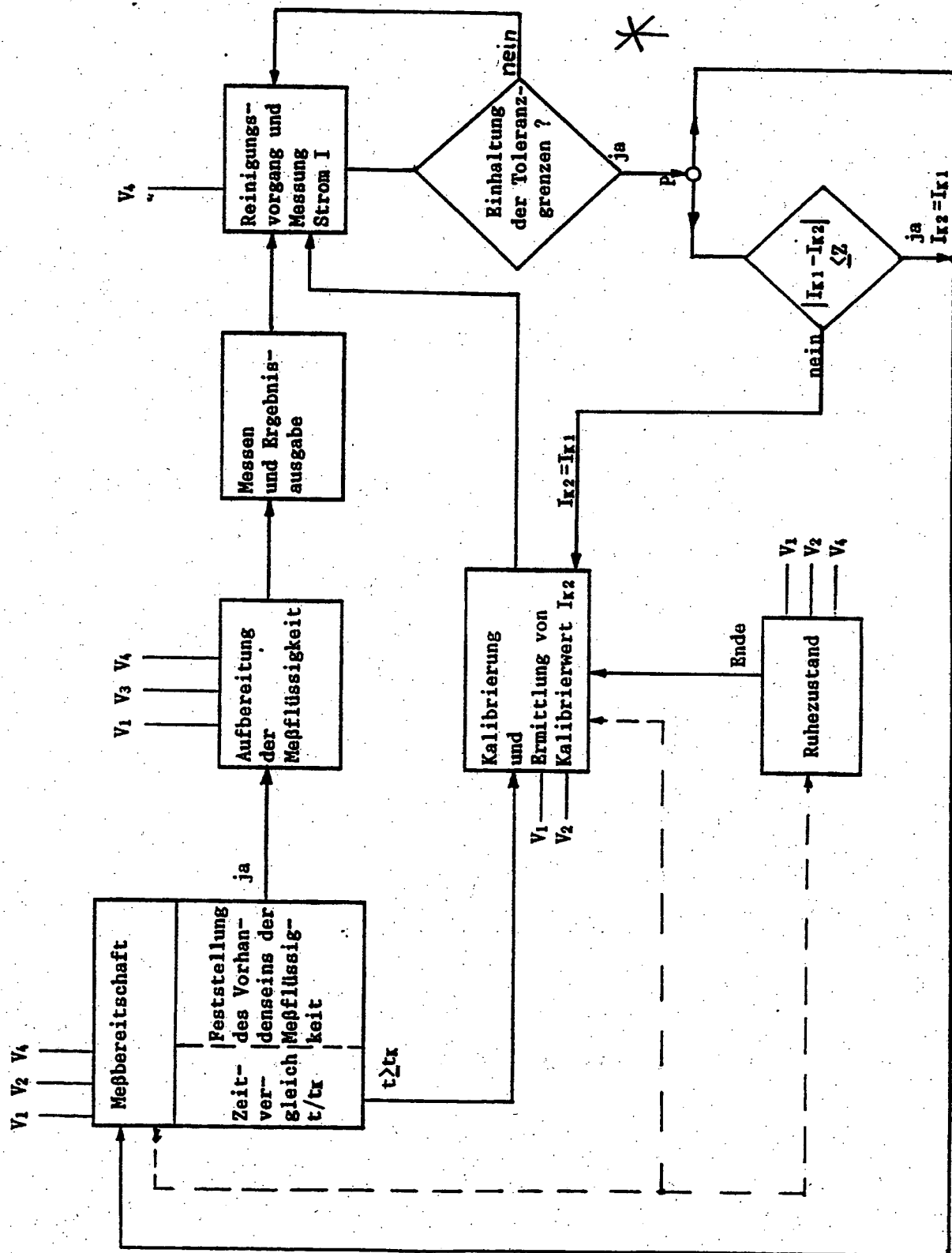
14. Durchflußmeßanordnung nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß ein Teil des Kopfes des jeweiligen Biosensors (2) senkrecht durch ein die Wand des Durchflußkanals (1) durchbrechendes Langloch (9) in den Durchflußkanal (1) hineinragt.

15. Durchflußmeßanordnung nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchflußkanal (1) im Wesentlichen geradlinig und zumindest in den Abschnitten mit Biosensor (2) im rechten Winkel zur Längsachse des jeweiligen Biosensors (2) verläuft.

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

**181**



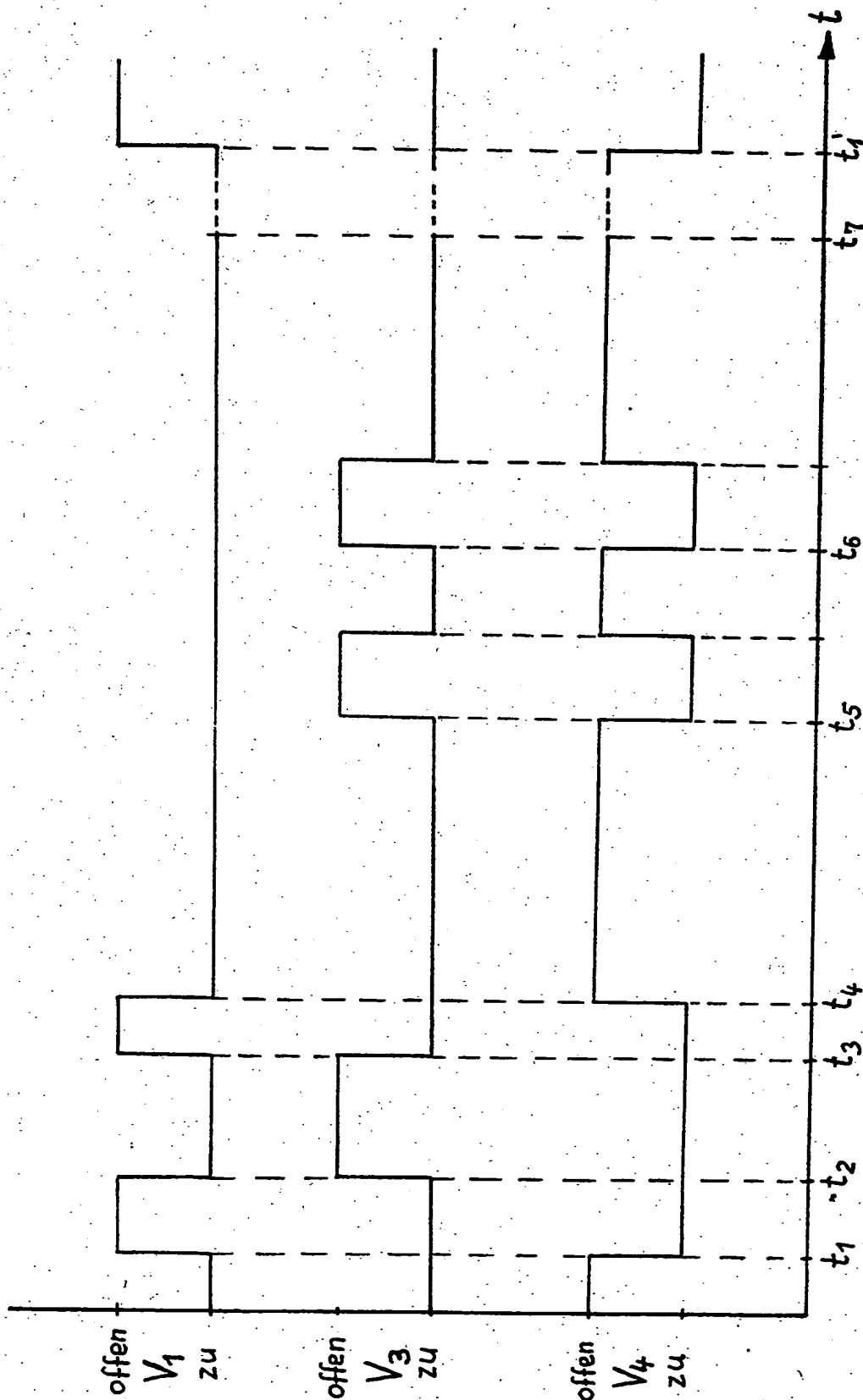


Fig. 2

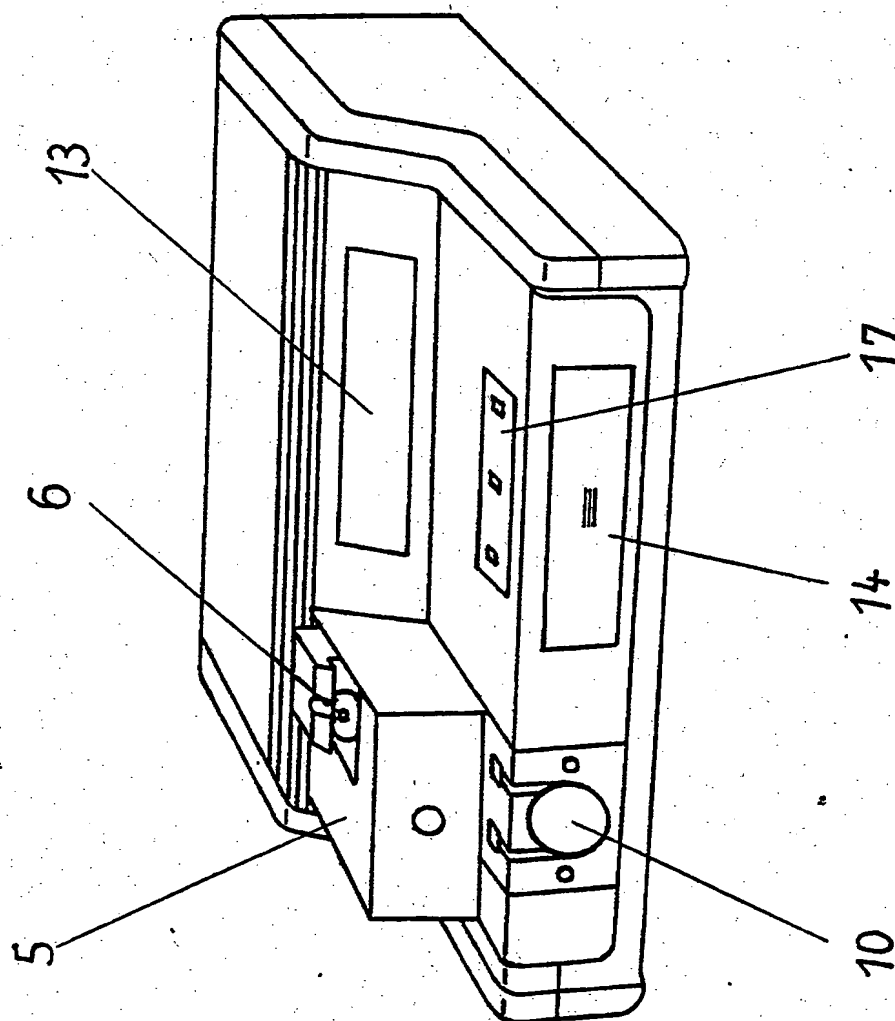
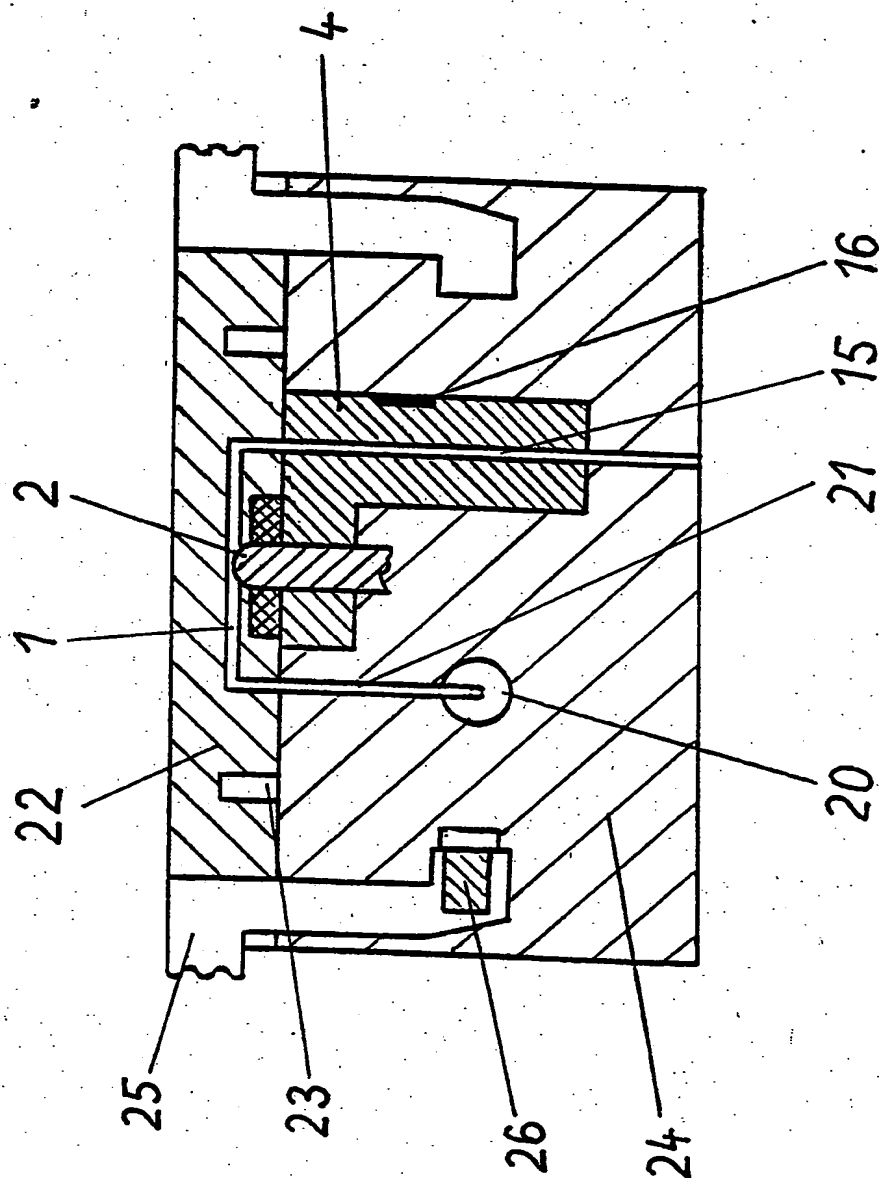


Fig. 3





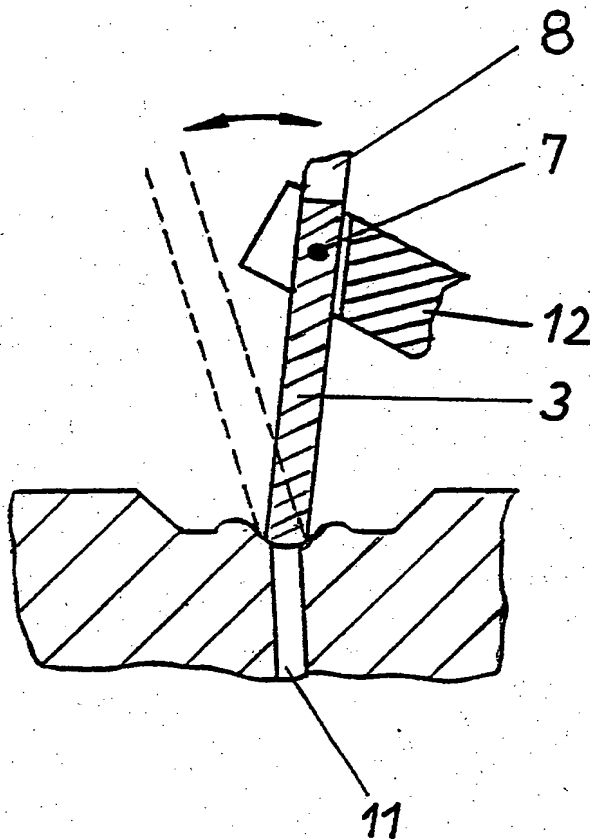


Fig. 5.

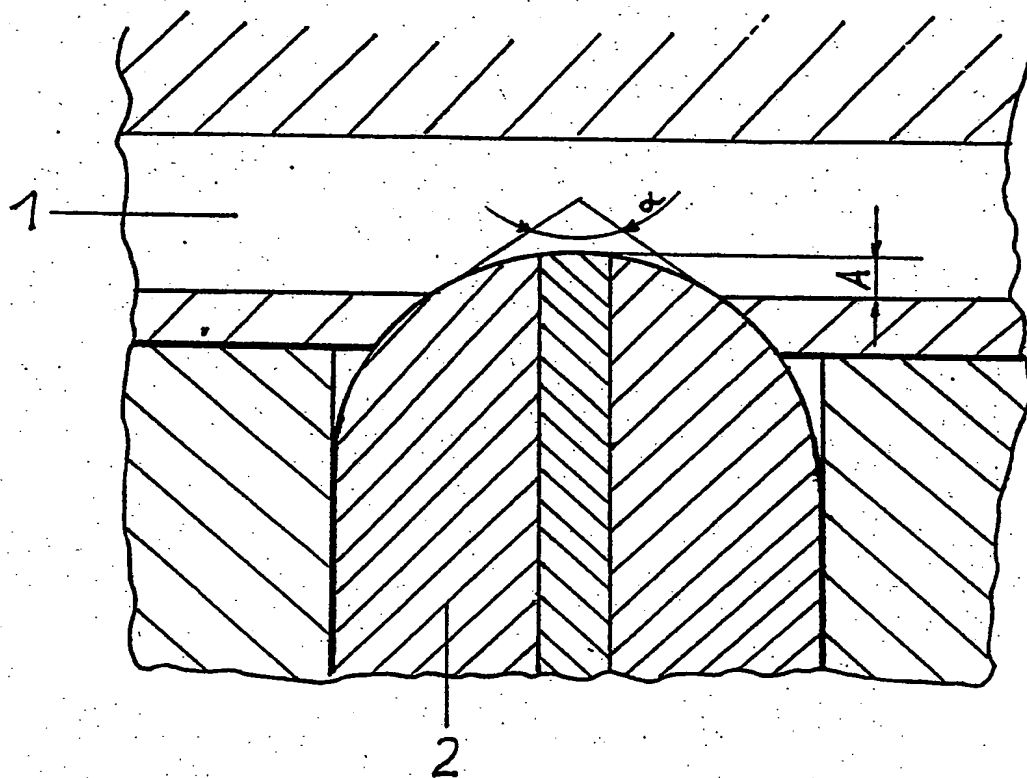


Fig. 6a

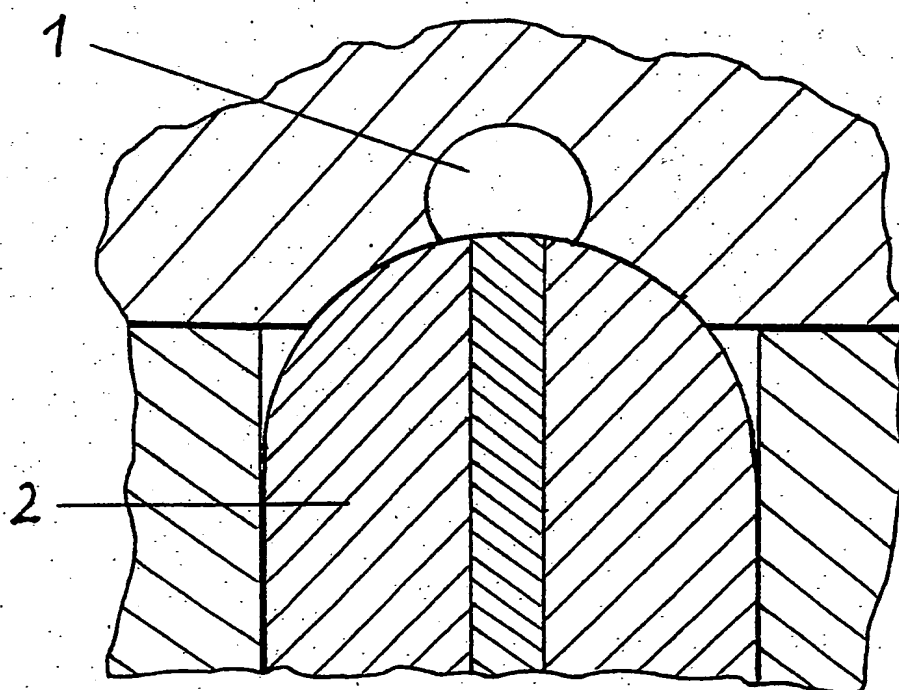


Fig. 6b

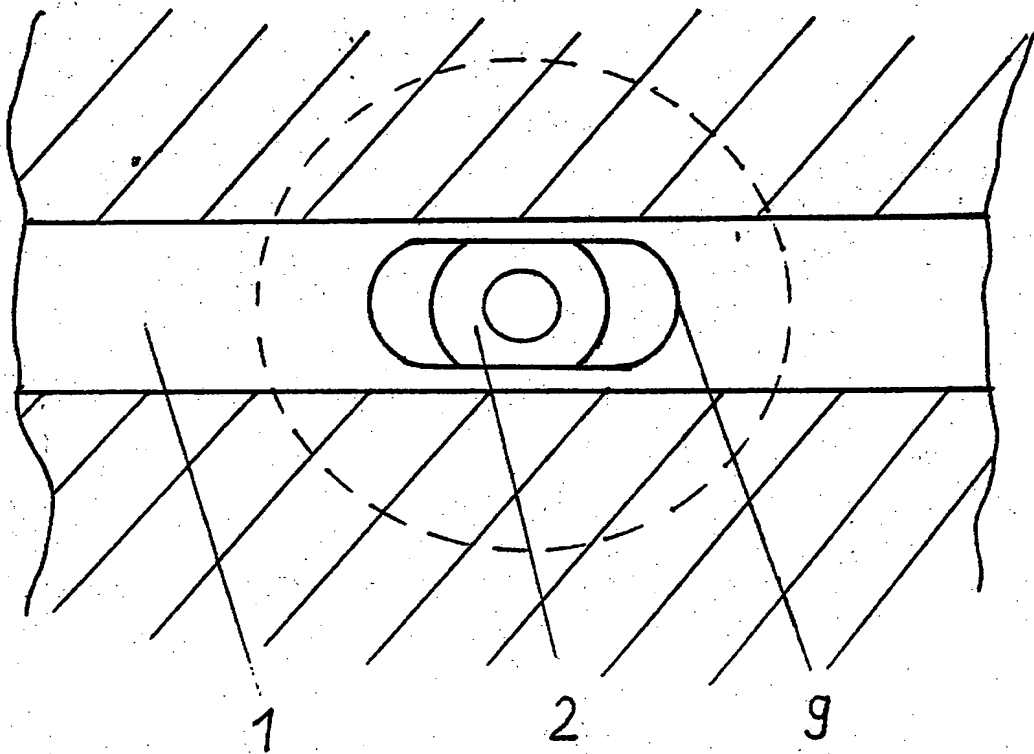


Fig. 6c